Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Göttingen
Direktor: Prof. Dr. H. Martius

Über den quantitativen Nachweis von gonadotropem Hormon in der Placenta

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Hella Grimme aus Hildesheim

Göttingen 1939

Druck: Grimmesche Hofbuchdruckerei Bückeburg

Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Göttingen
Direktor: Prof. Dr. H. Martius

Über den quantitativen Nachweis von gonadotropem Hormon in der Placenta

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Hella Grimme aus Hildesheim

Göttingen 1939

Druck: Grimmesche Hofbuchdruckerei Bückeburg

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Martius
Prof. Dr. med. W. Bickenbach
Dekan: Prof. Dr. med. Krantz.

Nachdem Halban 1905 in einer Arbeit, die sich auf klinische Untersuchungen stützte, als erster die Placenta als innersekretorisch wirkendes Organ erkannte, ist sie in wachsendem Maße Gegenstand der experimentellen Forschung bis heute geblieben.

Halbans Arbeit fiel in eine Zeit, in der von einer Physiologie des Genitalapparates noch kaum etwas bekannt war. Die ersten Untersuchungen über Wesen und Bedeutung der Placenta ließen daher zunächst eine allgemein genitalstimulierende Wirkung vermuten. Erst als die Vorgänge an Ovar und Uterus als cyclisches, hormonal gesteuertes Geschehen bekannt waren, wurde die richtige Bewertung der im Versuch erzeugten Erscheinungen möglich und führte so bald zum Nachweis der gonadotropen Wirkstoffe, des Follikel- und Gelbkörperhormons, auch in der Placenta. Mehr und mehr konzentrierten sich nun die Untersuchungen auf Vorkommen, Bildung und Bedeutung der eigentlichen Sexualhormone in der Placenta.

Ihre bisherigen Versuchsergebnisse sind in Kürze folgende: Die Placenta enthält zu jeder Zeit der Gravidität gonadotropes und Follikelhormon. Die mengenmäßigen Bestimmungen widersprechen sich bislang, jedoch steht fest, daß der Hormongehalt mit dem Alter der Placenta in Beziehung steht. Überdurchschnittliche Mengen an gonadotropen Hormonen finden sich bei pathologisch verändertem Choriongewebe wie der Blasenmole und dem Chorionepitheliom. — Entgegen der alten Annahme, die im Hormongehalt der Placenta nur eine Speicherung von im Ovar und in der Hypophyse gebildeten Stoffen sah, wird jetzt ein chorialer Ursprung beider Hormone angenommen. Der Beweis gelang zunächst 1929 Waldstein und Amati, als sie in der Placenta einer Frau, der die Ovarien in den ersten Monaten der Schwangerschaft extirpiert waren, normale Follikelhormonmengen nachweisen konnten. Der hypophysäre Ursprung der gonadotropen Wirkstoffe der Placenta ist lange von Zondek verteidigt worden; doch stellte Phillip in der Gravidität einen verminderten Hormongehalt der Hypophyse, Hamburger und Evans geringe Unterschiede in der Wirkung des placentaren und hypophysären Hormons fest. Den experimentellen Nachweis einer Bildung von gonadotropem Hormon im Choriongewebe brachte kürzlich der Japaner Kido dadurch, daß er Placentargewebe von bekanntem Hormongehalt in die Augenvorderkammer infantiler Kaninchen zum Wachstum einpflanzte und danach am Genitale des Testtieres eine Wirkung erzielte, die einer weit größeren Hormonmenge entsprach, als das implantierte Placentarstück enthalten hatte. Es mußte also angenommen werden, daß neues Choriongewebe gewachsen und in diesem Hormon gebildet worden war.

In jüngster Zeit hat man versucht, die Genese der Schwangerschaftstoxikosen mit einer Steigerung der Hormonausscheidung in Beziehung zu bringen, nachdem Heim im Harn eklamptischer Frauen eine vermehrte Follikelhormonausscheidung festgestellt hatte. Bei Untersuchungen von Bickenbach und Fromme fand sich jedoch im Blut keine Hormonvermehrung, dagegen in der Placenta zweimal ein überdurchschnittlicher Follikelhormongehalt. — Für die gonadotropen Wirkstoffe liegen ähnliche Angaben über eine gesteigerte Ausscheidung im Harn vor (Anselmino und Hoffmann).

Untersuchungen über das Vorkommen gonadotroper Stoffe im Blut und in der Placenta bei Toxikosen stehen in ausreichendem Maße noch nicht zur Verfügung. Es war beabsichtigt, diese Lücke durch Untersuchung der Placenten eklamptischer Frauen zu schließen, doch zwangen methodische Schwierigkeiten bald, davon abzusehen, da die von Zondek für quantitative Hormonbestimmungen in der Placenta angegebene Implantationsmethode sich trotz zahlreicher Versuche als ungeeignet erwies.

Ihr Prinzip besteht bekanntlich darin, durch Einpflanzung abgewogenen, follikulinfreien Gewebes in abfallenden Dosen bei infantilen Mäusen diejenige minimale Gewebsmenge zu bestimmen, die noch eben fähig ist, eine positive Reaktion im Sinne des Follikelwachstums (HVR I), der Blutpunktbildung (HVR II) und der Luteinisation (HVR III) hervorzubringen.

Im einzelnen gingen wir hierbei folgendermaßen vor: Aus der Mitte einer frischen Placenta wurden Gewebsstücke verschiedenen Gewichts unter sorgfältiger Vermeidung aller decidualen Elemente herausgeschnitten und zunächst zur Entfernung des ätherlöslichen Follikulins 24 Stunden in Äther extrahiert, ein Vorgehen, das nach den Zondekschen Erfahrungen zugleich die Giftigkeit der Implantate erheblich herabsetzt. Nach Abdunstung des Äthers waren die Gewebsstücke implantationsbereit. Als Einpflanzungsort wählten wir für Gewebe bis zum Gewicht von 0,2 g den Adductorenschlitz der Oberschenkelmuskulatur; größere Gewebsstücke wurden nach Aufteilung in kleinere Bröckel unter die Rückenhaut gebracht. Über Implantationsdosen von 0,4 g gingen wir nicht hinaus. Der Eingriff, den wir in Äthernarkose durchführten, wurde von den Tieren gut vertragen. Die Sektion erfolgte nach 100 Stunden. Hierbei wurden die Genitalorgane nach genauer Besichtigung zur nachfolgenden histologischen Untersuchung herausgenommen. Außerdem unterzogen wir stets die Implantationsstelle einer eingehenden Kontrolle. Dabei fand sich, daß Implantate bis 0,2 g fast gänzlich resorbiert, jedoch an Resten graugelblichen Gewebes noch deutlich erkennbar waren; größere Gewebsstücke aber zeigten sich kaum verkleinert und hatten ihre ursprüngliche Form und Konsistenz selbst dann noch behalten, wenn die Tiere erst nach 144 oder 168

Stunden getötet wurden. Mindestens im Zentrum dieser Gewebsreste befanden sich noch Hormonmengen, die der Aufnahme durch das Implantationstier entgangen waren.

Damit entfallen aber bei dieser Methode die Voraussetzungen für eine quantitative Erfassung sämtlicher Hormonmengen: Denn nur bei völliger Resorption der Implantate kann die in ihnen enthaltene gonadotrope Substanz im Versuch wirksam werden und ein gültiges Versuchsergebnis zustande kommen. Eine vollständige Aufsaugung der Placentarimplantate tritt bei infantilen Mäusen aber nur bei Gewebsmengen von weniger als 0,2 g auf. Bei Implantationsmengen von über 0,2 g entspricht die resorbierte Hormonmenge lediglich dem Anteil des resorbierten Gewebes, so daß ein zu geringer Wirkstoffgehalt vorgetäuscht wird. Ist die gesuchte minimale Hormonmenge, die noch eben eine positive Reaktion auslöst, in einem sehr großen Gewebsstück enthalten, so wird seine Wirkung am Genitale stets unterschwellig bleiben. — Der Implantationsmethode haftet noch ein weiterer Fehler an: Während infolge des gleichmäßigen Aufbaus der Placenta bei größeren Placentarstücken das Verhältnis von Stroma und Parenchym dem des Gesamtorganes entspricht, und daher sein Hormongehalt dem des ganzen Organes gewichtsproportional ist, läßt sich bei der Herstellung kleinster Implantate nicht vermeiden, daß der implantierte Gewebsbröckel einmal mehr Stroma, im anderen Falle mehr Parenchym enthält. Der so entstehende Fehler vervielfältigt sich durch die Berechnung des Hormongehaltes der ganzen Placenta.

Diese Fehlermöglichkeiten der Implantationsmethode sind bei der folgenden Aufstellung über die in verschiedenen Placenten gefundenen Wirkstoffmengen zu berücksichtigen:

Implantationsversuche:

Nr. und Art der Placenta	Gonadotropes Follikelreifungshormon			Gonadotropes Luteinisierungshormon		
	Gewebsmenge, in der 1E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta	Gewebsmenge, in der 1E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta
1. Norm. Plac.	0,15 g	6,6 E	4200 E	0,15 g	6,6 E	4200 E
2. Norm. Plac.	0,2 g	5 E	3000 E	0,2 g	5 E	3000 E
3. Norm. Plac.	0,1 g	10 E	6000 E			
4. Norm. Plac.	0,15 g	6,6 E	3000 E			
5. Plac. bei Eklampsie	0,25 g	4 E	3300 E			
6. Plac. bei Eklampsie	0,3 g	3,3 E	?			

Der Follikelreifungsfaktor war in jeder der untersuchten Placenten nachweisbar; die gefundenen Mengen stimmen sowohl bezogen auf die Gewichtseinheit wie auf die Placenta im ganzen gut überein. Die Werte schwanken zwischen 3,3 E und 10 E in 1 g Placentargewebe und zwischen 3000 und 6000 E in der ganzen Placenta.

Der Luteinisierungsfaktor konnte nur bei zwei Placenten nachgewiesen werden. In vier weiteren Fällen gab die Implantationsmethode keine Aufklärung über den Gehalt an Luteinisierungshormon, da selbst mit den größtmöglichen Implantaten keine Luteinisation hervorgerufen werden konnte.

Zusammenfassend kommen wir also zu dem Ergebnis, daß durch Gewebseinpflanzungen nicht jedes Hormonvorkommen quantitativ erfaßt werden kann, da die Implantationsmethode nur bei bestimmten Implantatgewichten gültige Ergebnisse ergibt, und andererseits der Hormongehalt der verschiedenen Placenten nicht gleich ist — Zu ganz ähnlichen Resultaten ist Phillip gekommen, dem es „mit 0,2 g Gewebe zuweilen, jedoch nicht immer gelang, eine Luteinisation hervorzurufen, wobei 0,2 g die größtmögliche Implantationsmenge für die infantile Maus ist".

Es mußte also, um gonadotrope Hormone quantitativ erfassen zu können, eine neue Methode entwickelt werden.

Um eine vollständige Resorption auch größerer Gewebsmengen sicherzustellen, versuchten wir zunächst durch Injektion von Gewebsbrei, den wir aus der Placenta gewannen, zum Ziel zu kommen. Die Herstellung einer solchen injektionsfertigen Masse erforderte eine Aufschwemmung des Gewebes mit Wasser, in dem die gonadotropen Hormone löslich sind.

Im einzelnen gingen wir folgendermaßen vor: Ausgangsmaterial war ein bis 10 g schweres Gewebsstück aus der Mitte einer frischen Placenta, das, nachdem die deciduale Deckschicht entfernt, etwa austretendes Blut abgetropft und hyaline oder verkalkte Stellen herausgeschnitten waren, zunächst 24 Stunden zur Entfernung des Follikulins in Äther gelegt wurde. Danach erfolgte eine gründliche Zerkleinerung des Gewebes im Porzellanmörser und Aufschwemmung des Breies mit Wasser auf das dreifache Volumen. Die Mischung ließen wir mehrere Stunden im Schüttelapparat schütteln, um eine möglichst vollständige Lösung der gonadotropen Hormone im Wasser zu erreichen. Von dieser Aufschwemmung wurden abfallende Mengen mit dicker Kanüle einer Anzahl von Tieren unter die Rückenhaut injiziert. Zweck dieses Vorgehens war auch diesmal die Ermittlung jener Gewichtsmenge, in der mindestens eine Mäuse-Einheit enthalten ist.

Hinsichtlich des zeitlichen Abstandes und der Verteilung der Einzelinjektionen hielten wir uns an das Verfahren bei der Schwan-

gerschaftsreaktion nach Ascheim-Zondek. Dieses Vorgehen vermeidet eine einmalige Überschüttung des Versuchstieres mit gonadotropen Hormonen und bewirkt eine allmähliche, annähernd gleichmäßige Zufuhr.

Wir spritzten die Tiere im ganzen sechsmal; am ersten Tage zweimal, am zweiten Tage dreimal und am dritten Tage einmal.

Die Verwendung verschiedener Verdünnungen ermöglichte es, auch kleinste Gewebsmengen genau zu dosieren. Der Grad der Verdünnung war dadurch bestimmt, daß die Einzeldosis nie mehr als 0,4 ccm und nie weniger als 0,1 ccm betragen durfte, um einerseits die Tiere nicht mit zu großen Gaben der Aufschwemmung zu belasten und andererseits die unvermeidlichen Ungenauigkeiten bei Injektionen kleinster Quantitäten zu vermeiden. Wollten wir also eine Gesamtmenge von 0,1 g Placenta spritzen, so mußten wir die dreifache Verdünnung zunächst verdoppeln und gaben dann die 1:6 verdünnte Aufschwemmung in sechs Einzelmengen von 0,1 ccm. — Oberste Gewichtsgrenze bei den von uns verwendeten Tieren war 8¾ g. Diese schweren Tiere wurden mit den großen Dosen belastet, um die Sterblichkeit so niedrig wie möglich zu halten. Die Genauigkeit der Versuchsergebnisse wird nicht herabgesetzt, da Tiere von diesem Gewicht seit langem bei uns bei den Schwangerschaftsreaktionen mitverwendet werden, ohne daß falsche Ergebnisse zustande gekommen sind.

Bei der Durchführung der Versuche stießen wir aber bald auf technische Schwierigkeiten: Bei noch so gründlich vorgenommener Zerkleinerung mit dem Mörser blieben immer Gewebsfetzen von einer Größe erhalten, daß selbst dicke Kanülen durch sie verstopft wurden. Diese Gewebsteile, die zwar verhältnismäßig bindegewebsreich sind, entgehen der Injektion und die in ihnen enthaltenen noch unaufgeschlossenen Hormonmengen der Resorption. — Es kommt hinzu, daß die Injektionen oft nicht gut vertragen werden: Die Aufsaugung des Gewebsbreies findet so langsam statt, daß bei der nächstfolgenden Einspritzung noch Reste der vorangegangenen nachweisbar sind; die reichlichen geweblichen Bestandteile der Aufschwemmung führen zu Infiltratbildung und Entzündung unter der Rückenhaut, die die Tiere so widerstandsunfähig machen, daß sie oftmals nach einer weiteren Injektion zu Grunde gehen.

Das Aufschwemmungsverfahren erwies sich also für unsere Versuchszwecke als ungeeignet: Es vermag keine genauen Resultate zu liefern; zudem ist es durch Schwierigkeiten in der Technik und eine hohe Mortalität der Versuchstiere belastet.

Wir haben nur wenige Versuche so durchführen können, wie wir beabsichtigten; die Ergebnisse sind folgende, wobei die Angaben für den Follikelreifungsfaktor und den Luteinisierungsfaktor getrennt sind:

Aufschwemmungsversuche:

Nr. und Art der Placenta	Gonadotroper Follikelreifungsfaktor: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta	Gonadotroper Luteinisierungsfaktor: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta
13. Norm. Plac.	0,2 g	5 E	3000 E	0,2 g	5 E	3000 E
21. Norm. Plac.	0,3 g	3,3 E	2000 E	0,3 g	3,3 E	2000 E
18. Plac. bei Eklampsie	0,1 g	10 E	5000 E	0,2 g	5 E	2500 E
10. Plac. der 16. Woche (Abort. incompl.)	0,05 g	20 E	?			
11. Plac. der 14. Woche (Interuptio)	0,05 g	20 E	?	0,05 g	20 E	?

Die Fehler dieser Methode lassen sich vermeiden, wenn das Placentargewebe so zerrieben wird, daß alle organische Substanz ohne Verlust injiziert werden kann. Von einer bestimmten Teilchengröße der Aufschwemmung an ist sogar zu erwarten, daß durch mehrstündliches Schütteln die Hormone vollständig in die Suspensionsflüssigkeit übergehen.

Eine so gründliche Gewebszerkleinerung läßt sich am besten mit Seesand vornehmen. — Nachträglich habe ich festgestellt, daß Zondek ein ähnliches Verfahren angegeben hat, das von ihm als „Extractionsmethode" bezeichnet wird, und daß er bei Untersuchungen über das Hormonvorkommen bei Chorionepitheliomen benutzt hat.

Wir zerrieben wiederum im Mörser. Der Sand, der in ungefähr dreifacher Menge zugesetzt wurde, war sterilisiert worden, um eine Verunreinigung des Gewebes durch Keime zu vermeiden. Unter langsamem Zufügen von destilliertem Wasser entstand so zunächst ein Brei, der, nachdem uns die Verreibung genügend erschien, soweit verdünnt wurde, daß das zugegebene Wasser der dreifachen Gewebsmenge entsprach. Auf je 25 ccm Wasser wurde ein Tropfen Trikresol zugesetzt, um die Haltbarkeit zu steigern. Die so entstandene Mischung wurde mehrere Stunden geschüttelt, danach der Sand durch Zentrifugieren entfernt, wobei nur eine geringe Menge organischer Substanz verloren ging, da sich im allgemeinen der Sand scharf gegen die Flüssigkeit absetzte. Der Verlust dieses wenigen, nicht gänzlich klein geriebenen Gewebes war zu verantworten, da es sich durchweg um rein bindegewebige Gewebsfetzen handelte, die sich nur ungenügend zerkleinern ließen. Nur bei Verarbeitung reifer Placenten war dieser Verlust nennenswert; bei

jungen Placenten dagegen gelang es, das Gewebe außerordentlich leicht und vollständig zu verreiben. Wir haben daher bei reifen Placenten keine Cotyledonen verwandt, die größere Mengen an Bindegewebe hyalinisiert oder verkalkt enthielten.

Die so erhaltene Mischung ist sowohl eine Aufschwemmung, d. h. eine Suspension feinster organischer Substanz in Wasser, wie auch ein Extrakt von Placentargewebe, dessen Hormongehalt in Lösung gegangen ist. — Wir behielten für unsere Untersuchungen die Zondeksche Bezeichnung „Extraktionsverfahren" bei.

Für die Injektion wurden wiederum verschiedene Verdünnungen hergestellt, um für jede zu verabreichende Dosis Injektionsmengen von sechsmal 0,1 bis 0,4 ccm zu erhalten.

Das Extraktionsverfahren hat sich uns bewährt und ist für eine große Anzahl von Placentaruntersuchungen benutzt worden. Anfänglich störte die verhältnismäßig hohe Mortalität der infantilen Mäuse von 13 % und ein gehäuftes Auftreten von schockartigen Zuständen kurz nach einer Injektion mit Krämpfen der gesamten Streckmuskulatur, von denen die Tiere sich aber stets wieder erholten. Wir hatten den Eindruck, als seien diese Zustände häufiger bei Injektionen der stärksten Verdünnungen und glaubten danach, ihre Ursache in der Verdünnungsflüssigkeit suchen zu sollen. Wir ersetzten daher das zugegebene destillierte Wasser durch physiologische Na-Cl-Lösung. Tatsächlich war eine Besserung deutlich. Die Mortalität sank bis auf 7 %, und schockartige Zustände wurden weit weniger beobachtet.

Die von uns injizierten Gewebsmengen wogen gewöhnlich zwischen 0,6 g und 0,1 g bei reifen Placenten; bei jungem und pathologischem Choriongewebe sind wir mit der Dosis bis auf 0,003 g heruntergegangen.

Es zeigte sich nach einigen Untersuchungen, daß es nicht möglich ist, für jede zu verabreichende Gewebsdosis nur ein oder zwei Testtiere anzusetzen, da mit dem Tod einzelner Versuchstiere während des Experimentes gerechnet werden muß und andererseits ein solches Vorgehen die individuelle Ansprechbarkeit der Tiere nicht genügend berücksichtigt.

Wir gingen daher zu der nachstehenden Versuchsanordnung über, die wir zunächst an zehn Placenten prüften. In sechs Fällen handelte es sich um reife Placenten normal verlaufener Schwangerschaften, dreimal entstammte das Placentargewebe Aborten des dritten bis vierten Monats, in einem Falle einer Eklampsiekranken. — Von der zu untersuchenden Placenta verabfolgten wir jeweils abfallend Injektionsmengen von 0,8 g bis 0,05 g und injizierten dabei immer vier bis fünf Tieren, in einigen Fällen auch nur drei Tieren, dieselben Mengen, so daß für die Untersuchung einer Placenta 22—28 Mäuse verwendet wurden.

Die Ergebnisse zeigt die nachstehende Aufstellung:

Nr. der Plac.	Art der Plac.	Zahl der positiven und nach Injektion verschieden Gewichtsangabe				
		0,8	0,6	0,4	0,3	0,2
79	Reife, norm. Plac.	+++++ +++++	+++++ ++++			+++-- +++--
82	Reife, norm. Plac.		+++++ ++++			++ ++
83	Reife, norm. Plac.	+++++ ++++	+++ +++		+++ +++	+++++ ++--
84	Reife, norm. Plac.	+++++ +++-	+++ +++		+++ ---	+++ +++
86	Reife, norm. Plac.		+++++ ++++		+++ ++-	+--- ----
87	Reife, norm. Plac.		+++-- ++--	+++++ -----		++-- ----
88	Eklampsie	+++ +++	+++-- ++--	+++++ +++++		+++++ +++++
80	Abort M. III–IV			+++++ +++++		+++++ +++++
81	Abort M. III–IV			+++ +++	+++ ++-	+- +-
85	Abort M. III–IV				++ ++	

Zur Tabelle: Die obere Zeile bezeichnet den Nachweis des Follikelreifungs-,

negativen Reaktionen großer Gewebsmengen				Follikel-reifungsfaktor		Lutein-isierungsfaktor	
in g				Einh. in 1 g	Gesamt-hormon-menge	Einh. in 1 g	Gesamt-hormon-menge
0,1	0,05	0,03	0,01				
+++ ++−	++− −−−			20	9600	10	4800
+−− +−−	−− −−	−− −−		10	4800	10	4800
+++ +++	++− +−−	−−− −−−		20	9300	20	9300
−−−− −−−−	+−− −−−	−−−− −−−−		20	7200	5	1800
+−−− −−−−	−− −−	−− −−		10	4800	3,3	1600
+−−− −−−−	−− −−			10	4200	1,7	720
+++ ++−	+++ ++−	−− −−		20	9600	20	9600
+++++ +++++	++++ ++++	+− +−	+− +−	100	3400	100	3400
+++ +++	+−− +−−	+−− −−−		33,3	?	20	?
++ ++	+− +−	+−− −−−		33.3	?	33,3	?

die untere den des Luteinisierungsfaktors.

Wie eine genaue Durchsicht der Tabelle ergibt, hat sich bei jeder der untersuchten Placenten sowohl für den Follikelreifungsfaktor wie für den Luteinisierungsfaktor deutlich ein Grenzwert von der noch positiven zur bereits negativen Injektionsdosis ergeben. Das heißt, es ließ sich in jedem der Fälle diejenige minimale Gewebsmenge bestimmen, unterhalb deren es nicht gelingt, eine positive Reaktion im Sinne der HVR I, HVR II oder HVR III zu erzeugen.

Die individuelle Reaktionsverschiedenheit ist dennoch in fast allen Untersuchungen deutlich. Sie zeigt sich darin, daß durch gleichgroße, die Grenzdosis überschreitende Gewebsmengen bei einzelnen Tieren keine positive Reaktion erzeugt werden konnte. Sie ist jedoch in keinem der untersuchten Fälle so groß, daß die Bildung eines deutlichen Grenzwertes durch sie verhindert worden wäre.

Die Mortalität der in den angestellten Versuchen verwendeten infantilen Mäuse beträgt nur 7 %, was einem Verlust von zwei, seltener von drei Tieren bei 25 für eine Untersuchung angesetzten Mäusen entspricht.

Bei Berücksichtigung sowohl der individuellen Reaktionslage wie der Mortalität der Tiere ist es also möglich, mit drei bis vier Mäusen, die dieselbe Dosis erhalten, ein gültiges Versuchsergebnis zu erzielen.

Bei der Berechnung des Gesamthormongehaltes gingen auch wir von der Annahme einer gleichmäßigen Verteilung der Wirkstoffe im Placentargewebe aus und berechneten die Hormonmenge des ganzen Organs als proportional dem Vorkommen in der Gewichtseinheit. — Um die Richtigkeit dieser Annahme zu beweisen, führten wir eine Bestimmung des Hormongehaltes in verschiedenen Cotyledonen einer Placenta durch und konnten in der Tat ein bis auf geringe Abweichungen gleichgroßes Vorkommen beider Faktoren in den verschiedenen Placentatbezirken nachweisen. Die Berechnung des Gesamthormongehaltes auf Grund der in der Gewichtseinheit gefundenen Werte besteht als zu Recht.

Die Extraktionsmethode erweist sich demnach in Form dieser Versuchsanordnung als ein Verfahren, das technisch leicht durchführbar und ohne zu hohen Verbrauch an Versuchstieren die quantitative Ermittlung des Hormonvorkommens im Placentargewebe gestattet. Sie ermöglicht daher Untersuchungen über den Hormonreichtum zu verschiedenen Zeiten der Schwangerschaft und vermag Aufschluß zu geben darüber, inwiefern der Hormongehalt bei Toxikosen verändert ist.

Die Resultate unserer Extraktionsversuche einschließlich der oben besprochenen zehn Placentaruntersuchungen sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt: Bei insgesamt 48 Versuchen überwiegen mit 33 bei weitem die Untersuchungen

normaler ausgetragener Placenten; es folgt an Häufigkeit mit acht Fällen Abortmaterial; sechsmal gelangte reifes Placentargewebe toxikotischer Patientinnen, in einem Falle eine Blasenmole zur Untersuchung. Der relative Hormongehalt wurde auf zweifache Weise angegeben, sowohl bezogen auf die Gewichtseinheit wie durch die Gewichtsmenge, in der die Einheit Hormon enthalten war; der absolute Hormongehalt konnte in einigen Fällen, für die das Gesamtgewicht der Placenta nicht bekannt war, nicht berechnet werden.

Die vergleichende Betrachtung der Versuchsergebnisse führt zu folgenden Feststellungen:

1. Der Gehalt an Follikelreifungs- und Luteinisierungshormon ist bei der Mehrzahl der Placenten gleich groß; nur bei einem Teil der Untersuchungen wurden nach Injektion von Gewichtsmengen, mit denen keine Luteinisierung oder Blutpunktbildung zu erzielen waren, Scheidenaufbau und Follikelreifung gesehen; ein Überwiegen des Luteinisierungsfaktors wurde dagegen nicht beobachtet.

Die noch folgenden mengenmäßigen Angaben im Text über die gefundenen Wirkstoffmengen beziehen sich zur Vereinfachung der Besprechungen sämtlich auf den Gehalt an Luteinisierungshormon; das in einer Reihe von Untersuchungen davon abweichende Vorkommen des Follikelreifungsfaktors ist jedoch aus der Tabelle ersichtlich.

2. Der Vergleich des Hormongehaltes bei Choriongewebe verschiedener Art zeigt, daß durchschnittlich bei normalen ausgetragenen Placenten weit größere Gewebsmengen zur Erzeugung der Luteinisation oder Blutpunktbildung notwendig waren, als dies bei jungem Placentargewebe der Fall ist.

Die Zahl der Einheiten in 1 g Gewebe schwankt bei normalen reifen Placenten in unseren Versuchen zwischen 1,7 E und 20 E; der Höchstwert von 20 E/g konnte jedoch nur einmal, 10 E/g nur in zwei unter 28 Fällen nachgewiesen werden. Das durchschnittliche Hormonvorkommen bei den von uns untersuchten reifen, normalen Placenten liegt bei 4,5 E/g. Wahrscheinlich ist dieser Mittelwert zu niedrig, da die Versuche, die einen geringen Hormongehalt ergaben, sämtlich bis auf eine Ausnahme zu jenen Untersuchungen gehören, bei denen zu wenig Mäuse angesetzt oder bei denen die Verdünnung des Gewebsbreies noch nicht mit physiologischer Kochsalz-Lösung vorgenommen wurde.

Nach den Ergebnissen, die mit der verbesserten Methode erzielt wurden, wäre der mittlere Hormongehalt einer reifen, nicht pathologischen Placenta mit 4,8 bis 5,2 E/g anzunehmen.

Der Hormonreichtum im jungen Choriongewebe des III. bis IV. Schwangerschaftsmonats dagegen, das in vier Fällen Aborten, in vier anderen Schwangerschaftsunterbrechungen entstammte, errechnet sich im Mittel auf 25 E/g.

Die größte Hormondichte mit 100 E/g fand sich bei einer Interuptio, die in der 12. Graviditätswoche wegen eines metastasierenden Mamma-Carcinoms vorgenommen wurde. Geringere Werte als 10 E/g wurde bei Choriongewebe des III.—IV. Monats überhaupt nicht, dagegen bei Placenten der 16.—20. Woche beobachtet. Der Durchschnittswert von 25 E/g darf hier als richtig angesehen werden, wenn man von der kleinen Zahl von nur acht untersuchten Placenten absieht, da alle Untersuchungen jungen Placentargewebes bis auf eine mit dem verbesserten Extraktionsverfahren durchgeführt wurden.

3. Der Gesamthormongehalt eines ausgetragenen Mutterkuchens übertrifft dennoch infolge seiner Größe im allgemeinen bei weitem den einer Placenta der ersten Schwangerschaftsmonate.

Durchschnittlich wurden 2000—3000 E, mehrfach aber 3000 bis 5000 E nachgewiesen; in einem Falle, bei dem in 1 g Gewebe 20 E festgestellt wurden, betrug der Gesamthormongehalt 9300 E. Das mittlere Wirkstoffvorkommen in einer Placenta der ersten Schwangerschaftsmonate dürfte dagegen unter oder wenig über 1000 E liegen. Nur einmal wurde bei einer Placenta, die 100 E/g enthielt, der Hormonreichtum des ganzen Organs von 3400 E errechnet.

Es zeigen also auch unsere Untersuchungen die Abhängigkeit des Hormongehaltes vom Alter des Placentargewebes in dem Sinne, daß mit steigendem Alter der Placenta die Hormondichte im Choriongewebe zwar geringer wird, der Gesamthormongehalt aber zunimmt.

Leider konnte nur sechsmal Choriongewebe von Frauen mit Toxikosen untersucht werden; in zwei Fällen sind die Ergebnisse nicht für die vergleichende Betrachtung des Hormonvorkommens bei normalen und pathologischen Placenten geeignet, da das Gewebe der unverbesserten Versuchsweise unterzogen wurde. Beidemal liegt die nachgewiesene Hormonmenge wesentlich unter dem Durchschnittsgehalt der normalen, reifen Placenta.

4. Drei von vier der zur Beurteilung überbleibenden Placenten eklamptischer Frauen zeigen einen Gehalt an Wirkstoffen, der zweimal an der oberen Grenze der bei nicht pathologischen Placenten gefundenen Werte, einmal darüber liegt.

Zweimal wird eine Hormondichte von 10 E/g, einmal von 20 E/g erreicht; von vier untersuchten Placenten enthalten drei über 5000 E Hormon. Ähnliche Dichtewerte fanden sich bei normalen Placenten erst unter 28 Untersuchungen; das absolute Hormonvorkommen von mehr als 5000 E wurde unter 28 Untersuchungen nur einmal erreicht.

Es hat nach den Ergebnissen dieser wenigen Untersuchungen, aus denen weitere Schlüsse zu ziehen nicht möglich ist, den Anschein, als seien Steigerungen des Hormonvorkommens über den bei nor-

malen, ausgetragenen Placenten gefundenen Wirkstoffgehalt hinaus bei Eklampsien häufig. Die nachgewiesenen Werte übertreffen nicht oder kaum die auch bei nicht pathologischen Schwangerschaften öfter auftretenden höheren Hormonmengen. Exessive Steigerungen des Hormonvorkommens finden sich unter unseren Fällen nicht.

Die Ergebnisse unserer Versuche legen es nahe, die Frage einer Hormonvermehrung in der Placenta bei Toxikosen, sowie die Beziehungen des Hormonvorkommens zur Genese dieser Erkrankungen an Hand zahlreicherer Untersuchungen zu prüfen.

Zusammenfassung:

Es war beabsichtigt, durch quantitative Bestimmung der gonadotropen Hormone in Placenten toxikosekranker Frauen einen Beitrag zur Klärung der Frage zu geben, inwiefern das Hormonvorkommen in der Placenta bei Toxikosen verändert und in ursächlichem Zusammenhang mit der Genese der Toxikosen zu bringen ist.

Da sich die bei Placentargewebsuntersuchungen früher verwandte Implantationsmethode nicht zur Erfassung aller Hormonvorkommen geeignet erwies, wurde zunächst eine Methode entwickelt:

Das Untersuchungsverfahren ermöglicht durch feinste Zerkleinerung des zu untersuchenden Gewebes sowohl größere Gewebsmengen aufgeschwemmt zu injizieren, wie kleinere zu verabreichende Gewebsmengen durch Verdünnung auf ein Vielfaches genau zu dosieren.

Es wurden reife, normale Placenten, Choriongewebe der ersten Schwangerschaftsmonate und Placenten von Eklampsiekranken untersucht.

Die Hormonbestimmungen ergaben eine Abhängigkeit des Hormongehaltes vom Alter des chorialen Gewebes, derart, daß mit zunehmendem Alter der Schwangerschaft der relative Hormongehalt abnimmt, der absolute ansteigt.

Von vier untersuchten Placenten eklamptischer Frauen enthalten zwei Hormonmengen, die an der oberen Grenze der von uns beobachteten Werte bei normalen Placenten liegen; der Hormongehalt der dritten Placenta ist von keiner der nicht pathologischen Placenten erreicht worden.

Extraktionsversuche:

I. Untersuchungen reifer, normaler Placenten.

Nr. der Plac.	Gonadotropes Follikelreifungshormon: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta	Gonadotropes Luteinisierunshormon: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta
23.	0,3 g	3,3 E	1650 E	0,3 g	3,3 E	1650 E
24.	0,4 g	2,5 E	750 E			
26.	0,3 g	3,3 E	990 E	0,6 g	1,7 E	510 E
27.	0,4 g	2,5 E	1000 E	0,4 g	2,5 E	1000 E
33.	0,3 g	3,3 E	1400 E	0,3 g	3,3 E	1400 E
36.	0,6 g	1,7 E	680 E	0,6 g	1,7 E	680 E
37.	0,4 g	2,5 E	1100 E	0,4 g	2,5 E	1100 E
39.	0,2 g	5 E	2050 E	0,2 g	5 E	2050 E
45.	0,2 g	5 E	2000 E			
46.	0,2 g	5 E	2600 E	0,4 g	2,5 E	1300 E
47.	0,2 g	5 E	2600 E	0,2 g	5 E	2600 E
48.	0,2 g	5 E	3000 E			
49.	0,2 g	5 E	2500 E	0,4 g	2,5 E	1250 E
50.	0,2 g	5 E	3500 E	0,2 g	5 E	3500 E
54.	0,2 g	5 E	2500 E	0,4 g	2,5 E	1250 E
55.	0,4 g	2,5 E	1450 E	0,4 g	2,5 E	1450 E
56.	0,2 g	5 E	2500 E	0,2 g	5 E	2500 E
60.	0,2 g	5 E	3000 E	0,2 g	5 E	3000 E
61.	0,2 g	5 E	2500 E	0,2 g	5 E	2500 E
62.	0,2 g	5 E	2500 E	0,2 g	5 E	2500 E
63.	0,3 g	3,3 E	1700 E	0,3 g	3,3 E	1700 E
65.	0,2 g	5 E	2500 E	0,2 g	5 E	2500 E
70.	0,4 g	2,5 E	1450 E	0,4 g	2,5 E	1450 E
74.	0,3 g	3,3 E	1500 E	0,3 g	3,3 E	1500 E
79.	0,05 g	20 E	9600 E	0,1 g	10 E	4800 E
82.	0,1 g	10 E	4800 E	0,1 g	10 E	4800 E
83.	0,05 g	20 E	9300 E	0,05 g	20 E	9300 E
89.	0,2 g	5 E	3500 E	0,2 g	5 E	3500 E
84.	0,05 g	20 E	7200 E	0,2 g	5 E	1800 E
86.	0,1 g	10 E	4800 E	0,1 g	10 E	1600 E
35.	0,4 g	2,5 E	1000 E	0,4 g	2,5 E	1000 E

II. Untersuchungen von Placenten der ersten Schwangerschaftsmonate.

Nr. und Art der Placenta	Gonadotropes Follikelreifungshormon: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta	Gonadotropes Luteinisierungshormon: Gewebsmenge, in der 1 E enthalten ist	Zahl der Einh. in 1 g Plac.	Hormonmenge d. ganzen Placenta
44. Interuptio (Epilepsie) M. IV	0,1 g	10 E	?	0,1 g	10 E	?
72. Abort M. IV	0,1 g	10 E	?	0,1 g	10 E	?
75. Abort M. III	0,08 g	12,5 E	310 E	0,08 g	12,5 E	310 E
76. Abort Foet 1,5 cm	0,05 g	20 E	?	0,05 g	20 E	?
77. Abort M. III–IV	0,05 g	20 E	?	0,05 g	20 E	?
80. Interuptio Mamma-Ca. 12. W.	0,01 g	100 E	3400 E	0,01 g	100 E	3400 E
81. Uterus myom. Foet 20 cm	0,05 g	20 E	?	0,05 g	20 E	?
85. Interuptio M. V–VI (Diabetes)	0,1 g	10 E	?	0,1 g	10 E	?
42. Blasenmole	0,05 g	20 E	?	0,05 g	20 E	?

III. Untersuchungen von Placenten bei Schwangerschaftstoxikosen.

17. Eklampsie i. Wochenbett	0,3 g	3,3 E	2000 E	0,5 g	2 E	1400 E
40. Eklampsie	0,3 g	3,3 E	1400 E	0,3 g	3,3 E	1400 E
88. Eklampsie	0,05 g	20 E	9600 E	0,05 g	20 E	9600 E
58. drohende Eklampsie	0,05 g	20 E	11000 E	0,1 g	10 E	5500 E
73. Leichte Nephropathie	0,1 g	10 E	5000 E	0,1 g	10 E	5000 E
41. Behandelte Nephropath.	0,05 g	20 E	1800 E	?	?	?

Literatur:

Anselmino und Hoffmann: Zbl. f. Gyn. 1934, S. 2363.

Amati: Zbl. f. Gyn. 1928, S. 2639—2645.

Bentivoglio: Zbl. f. Gyn. 1934, S. 1021.

Bickenbach und Fromme: Klin. Wochenschr. 1934, S. 496.

Evans, Meyer, Simpson: American. J. Phys. 1932, Bd. 100, S. 141.

Fromme: Inaugural-Dissertation, Göttingen 1935.

Heim: Monatsschr. f. Geburtshilfe und Gynäkologie, Dez. 1936. Klin. Wochenschrift 1934, Nr. 45.

Halban: Archiv f. Gyn., Bd. 75, S. 353, Jahrgang 1905.

Kido: Zbl. f. Gyn. 1937, Nr. 36.

Phillip: Zbl. f. Gyn. 1930, Nr. 8 und Nr. 30. Dtsch. Med. Wochenschrift 1932, Nr. 6, S. 217.

Smith und Smith: Berichte 1935, Bd. 30 H, S. 525 und S. 329.

Waldstein: Zbl. f. Gyn., 1929. Bd. 53, S. 1305—1329.

Lebenslauf:

Am 13. Juni 1912 wurde ich in Hildesheim als Tochter des Dr. med. Hermann Grimme und seiner Ehefrau Käthe, geb. v. Bismarck. geboren.

Die Schule besuchte ich bis zur Sekunda in Hildesheim, dann in Göttingen, wo ich 1931 die Reifeprüfung am Oberlyzeum bestand.

Vorklinisch studierte ich in Freiburg und München und legte dort 1933 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach dem Physikum war ich zunächst in Königsberg, dann in Berlin und ging dann zur Ablegung des Staatsexamens nach Göttingen, das ich im Dezember 1936 bestand.

Acht Monate des praktischen Jahres war ich als Praktikant an der Universitätsfrauenklinik in Göttingen.

Nach Erhalt der Bestallung am 1. 2. 1938 war ich zunächst Volontärassistent an der Inneren Abteilung des Friederikenstiftes in Hannover.

Seit dem 1. 4. 1938 bin ich Assistent an der Medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Hildesheim.